



Year: 2012

Infektionsbedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben am Ende der «Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome» (PMWS)-Epizootie

Handke, M ; Engels, M ; Prohaska, S ; Keller, C ; Brugnera, E ; Sydler, T ; Sidler, X

Abstract: Porcine Circoviren Typ 2 (PCV2) sind in der Lage Fruchtbarkeitsstörungen zu induzieren. Sechs Jahre nach Beginn der Epizootie des «Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome» (PMWS) in der Schweiz wurden 286 Feten von 113 Muttersauen aus 59 Betrieben auf infektiöse Ursachen für Fruchtbarkeitsstörungen mit Aborten, vermehrt mumifizierten oder totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln untersucht. 14 % der Fälle wurden anhand von Erregerisolation und histologischen Entzündungsanzeichen einer bakteriellen Infektion zugeordnet. In weiteren 12 % konnten histologisch Entzündungsreaktionen ohne plausiblen Erregernachweis gefunden werden. PCV2 wurde mittels Immunhistochemie (IHC) in nur 4 % der Fälle nachgewiesen und scheint somit in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsproblemen eine untergeordnete Rolle zu spielen. Infektionen mit dem porcinen Parvovirus (PPV) sind mit 3 % der Fälle deutlich seltener als in früheren Untersuchungen. Auf Enteroviren/Teschovirus wurde nur stichprobenweise bei ätiologisch unklaren Fällen untersucht und eine Prävalenz von 11 % ermittelt. Unseres Wissens ist das der erste Nachweis von Enteroviren/Teschovirus in Feten in der Schweiz. Die ätiologische Ursache blieb in über 50 % aller Fälle, auch unter Anwendung moderner diagnostischer Methoden, unklar. = Porcine Circovirus type 2 (PCV2) is able to induce reproductive failures. 286 fetuses from 113 sows of 59 farms with increased reproductive disorders which included abortions, mummies, stillborn and weak born piglets were studied six years after the beginning of the epizooty of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Switzerland. 14 % of the cases were bacterial infections based on histological signs of inflammation and pathogen isolation. 12 % further cases showed inflammatory reactions by histology without pathogen identification. PCV2 was identified in only 4 % of cases by immunohistochemistry (IHC). Thus, PCV2 infections are of minor importance in respect to pig reproductive failures in Switzerland. Porcine parvovirus (PPV) infections were found in 3 % of the cases and seem to occur more infrequently compared to former findings. Hitherto, Enteroviruses/Teschovirus were marginally studied in etiologically undefined cases with a prevalence of 11 %. To our knowledge this is the first identification of Enteroviruses/Teschovirus in fetal tissue from reproductive failures in Switzerland. The etiology remained unclear in more than 50 % of all cases in spite of modern diagnostic methods.

DOI: <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000380>

Other titles: Infection related fertility disorders in Swiss pig breeding farms at the end of the postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) epizooty

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-65898>

Journal Article

Accepted Version

Originally published at:

Handke, M; Engels, M; Prohaska, S; Keller, C; Brugnera, E; Sydler, T; Sidler, X (2012). Infektionsbedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben am Ende der «Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome» (PMWS)-Epizootie. Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 154(10):437-444.

DOI: <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000380>

1 Infektiös bedingte Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen
2 Schweinezuchtbetrieben am Ende der Postweaning Multisystemic Wasting Syndrom
3 (PMWS)-Epizootie
4

5 M. Handke¹, M. Engels², S. Prohaska³, Ch. Keller⁴, E. Brugnera¹, T. Sydler^{5*}
6 und X. Sidler^{1*}
7

8 ¹Departement für Nutztiere, Abteilung Schweinemedizin, ²Institut für Virologie und
9 ³Institut für Veterinärbakteriologie Universität Zürich, ⁴BioScreen European
10 Veterinary Disease Management Center GmbH, Münster (Germany), ⁵Institut für
11 Veterinärpathologie, Universität Zürich.
12

13 * gleichberechtigte Mitautoren
14

15 Zusammenfassung
16

17 Porzine Circoviren Typ 2 (PCV2) sind in der Lage Fruchtbarkeitsstörungen zu
18 induzieren. Sechs Jahre nach Beginn der Epizootie des „Postweaning Multisystemic
19 Wasting Syndroms“ (PMWS) in der Schweiz wurden 286 Feten von 113 Muttersauen
20 aus 59 Betrieben auf infektiöse Ursachen für Fruchtbarkeitsstörungen mit Aborten,
21 vermehrt mumifizierten oder totgeborenen und lebensschwachen Ferkeln untersucht.
22 14% der Fälle wurden anhand von Erregerisolation und histologischen
23 Entzündungsanzeichen einer bakteriellen Infektion zugeordnet. In weiteren 12%
24 konnten histologisch Entzündungsreaktionen ohne plausiblen Erregernachweis
25 gefunden werden. PCV2 wurde mittels Immunhistochemie (IHC) in nur 4% der Fälle
26 nachgewiesen und scheint somit in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsproblemen eine
27 untergeordnete Rolle zu spielen. Infektionen mit dem porzinen Parvovirus (PPV) sind
28 mit 3% der Fälle deutlich seltener als in früheren Untersuchungen. Auf
29 Enteroviren/Teschovirus wurde nur stichprobenweise bei ätiologisch unklaren Fällen
30 untersucht und eine Prävalenz von 11% ermittelt. Unseres Wissens ist das der erste
31 Nachweis von Enteroviren/Teschovirus in Feten in der Schweiz. Die ätiologische
32 Ursache blieb in über 50% aller Fälle, auch unter Anwendung moderner
33 diagnostischer Methoden, unklar.
34

Schlüsselwörter: Fruchtbarkeitsprobleme, Schwein, Prävalenz, Erreger, PCV2

Infectious related fertility disorders in Swiss pig breeding farms at the end of the postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) epizooty

Summary

Porcine Circovirus type 2 (PCV2) is able to induce reproductive failures. 286 fetuses from 113 sows of 59 farms with increased reproductive disorders which included abortions, mummies, stillborn and weak born piglets were studied six years after the beginning of the epizooty of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in Switzerland. 14% of the cases were bacterial infections based on histological signs of inflammation and pathogen isolation. 12% further cases showed inflammatory reactions by histology without pathogen identification. PCV2 was identified in only 4% of cases by immunohistochemistry (IHC). Thus, PCV2 infections are of minor importance in respect to pig reproductive failures in Switzerland. Porcine parvovirus (PPV) infections were found in 3% of the cases and seem to occur more infrequently compared to former findings. Hitherto, Enteroviruses/Teschovirus were marginally studied in etiologically undefined cases with a prevalence of 11%. To our knowledge this is the first identification of Enteroviruses/Teschovirus in fetal tissue from reproductive failures in Switzerland. The etiology remained unclear in more than 50% of all cases in spite of modern diagnostic methods.

Keywords: Reproductive failure, sow, prevalence, agents, PCV2,

Einleitung

Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein beinhalten verschiedene pathophysiologische Vorgänge und klinische Symptome. Sie können eingeteilt werden in (a) Störungen der Nidation (regelmässiges oder unregelmässiges Umrauschen), (b) frühzeitigen Trächtigkeitsabbruch mit Auswurf aller Feten (Abort) und (c) reduzierte Anzahl lebend geborener Ferkel infolge nicht lebensfähiger Tiere wie Mumien, Totgeburten und lebensschwacher Ferkel (Almond et al., 2006). Die letzte Untersuchung zu infektiös bedingten Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen

69 Schweinezuchtbetrieben stammt aus den 90er Jahren (Broll et al., 1993). Damals
70 konnte in 38% aller untersuchten Fälle eine ätiologische Diagnose gestellt werden,
71 wobei das porcine Parvovirus (PPV) mit 29% der häufigste infektiöse Erreger war.
72 Bakterien wurden in 8% aller Fälle nachgewiesen und fakultativ pathogene Erreger,
73 wie *E. coli* und Streptokokken, standen an erster Stelle. In 10% der Fälle gab es
74 entzündliche Veränderungen an inneren Organen, jedoch konnte kein plausibler
75 Erreger isoliert werden. Aus demselben Untersuchungsmaterial konnten in 4% der
76 Fälle zusätzlich Chlamydien in der Leber nachgewiesen werden (Thoma et al., 1997).
77 In einer Datenzusammenstellung von 943 untersuchten Schweinefeten aus der
78 Schweiz von 1988-1999 war PPV mit 15% ebenfalls der am häufigsten
79 nachgewiesene Erreger gefolgt von Bakterien (*E. coli*, Streptokokken und
80 Mischinfektionen). In einem Fall wurden Leptospiren nachgewiesen (Pospischil et al.,
81 2002). In 6% der Fälle konnten entzündliche Veränderungen gefunden werden ohne
82 dass ein Erreger isoliert werden konnte. In noch älteren Schweizer Untersuchungen
83 wurde PPV mit 48% (Zanoni et al., 1984) respektive 38% (Brunner et al., 1987) als
84 wichtigste infektiöse Ursache bei Fruchtbarkeitsstörungen gefunden.

85 In den letzten Jahren hat das porcine Circovirus Typ 2 (PCV2) im Zusammenhang
86 mit Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein weltweit zu Diskussionen Anlass
87 gegeben. PCV2 Infektionen werden heute für eine ganze Reihe von Krankheiten
88 verantwortlich oder mitverantwortlich gemacht, den sogenannten "Porcine Circovirus
89 Associated Diseases" (PCVAD). Darunter fallen neben dem "Postweaning
90 Multisystemic Wasting Syndrom" (PMWS), PCV2-assoziierte Pneumonien,
91 Enteritiden, Lymphadenitiden, das "Porcine Dermatitis Nephropathie Syndrom"
92 (PDNS) auch Fruchtbarkeitsstörungen (Opriessnig et al., 2007). Der erste Fallbericht
93 von PCV2-assoziierten Fruchtbarkeitsstörungen stammt aus Kanada (West et al.,
94 1999). Seither sind weltweit laufend neue Fallberichte dazugekommen, wobei PCV2
95 als alleiniger Infektionserreger gefunden (Josephson und Charbonneau, 2001;
96 Meehan et al., 2001; Mikami et al., 2005; Brunborg et al., 2007; Pittman, 2008), oder
97 als Koinfektion mit PPV, dem Encephalomyocarditis Virus (EMCV) und dem „Porcine
98 Respiratory and Reproductive Syndrome Virus“ (PRRSV) (O'Connor et al., 2001;
99 Pescador et al., 2007; Woods et al., 2009) in Mumien und abortierten Feten, sowie in
100 totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln nachgewiesen werden konnte.
101 PRRSV, das Pseudorabiesvirus (PRV) als Verursacher der Aujeszky'schen Krankheit
102 und die Europäische Schweinepest (ESP) gelten als wichtige Ursachen von

Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein (Almond et al., 2006). Die Schweiz ist jedoch bezüglich dieser drei Krankheiten anerkannt frei (Schwermer und Sievi 2010). Sowohl porcine Enteroviren (PEV) als auch porcine Teschoviren (PTV) werden als Verursacher von Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein diskutiert (Knowles, 2006). Sie wurden im Zusammenhang mit dem "Stillbirth Mummification Embryonic Death and Infertility Syndrome" (SMEDI-Syndrom) (Dunne et al., 1965) und Abortfällen beim Schwein beschrieben (Bielanski und Raeside, 1977; Kirkbride und McAdaragh, 1978). Die Gruppe der porcinen Teschoviren umfasst die ehemaligen Serotypen 1-7 (Talfangruppe) der porcinen Enteroviren (Kaku et al., 2001). Von den bekannten Serotypen gelten nur PTV 1, 3 und 6, sowie PEV 8 als pathogen für Feten (Knowles, 2006). Die PMWS-Epizootie in der Schweiz begann Ende 2003 (Wiederkehr et al., 2009). Der erste Fall von PCV2-bedingten Fruchtbarkeitsstörungen wurde in einem Abferkelringbetrieb mit vermehrt Mumien und Totgeburten aber erst im Jahr 2008 diagnostiziert (Sydler et al., 2011). Ziel dieser Arbeit war es, sich ein aktuelles Bild über die Ursachen von Fruchtbarkeitsstörungen in schweizerischen Schweinezuchtbetrieben zu verschaffen. Sechs Jahre nach Beginn der schweizerischen PMWS-Epizootie sollte insbesondere die Rolle von PCV2 im Zusammenhang mit Fruchtbarkeitsstörungen genauer untersucht werden.

Material und Methoden

Herkunft des Probenmaterials

Von Januar bis Oktober 2009 wurden Feten und Plazenten aus Schweinezuchtbetrieben mit Fruchtbarkeitsstörungen gesammelt. Das Untersuchungsmaterial stammte aus Betrieben mit vermehrt auftretenden Aborten (frühzeitiger Trächtigkeitsabbruch vor dem 110. Trächtigkeitstag mit gleichzeitigem Auswurf aller Feten) oder einer erhöhten Anzahl an mumifizierten, autolytischen, totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln. Pro Betrieb wurden maximal von drei Muttersauen im gleichen Trächtigkeitsstadium Ferkel und Plazenten untersucht. Bei Problemen in verschiedenen Trächtigkeitsstadien wurden pro Stadium zwei Muttersauen mit Ferkeln untersucht. War es nicht möglich die Plazenta einem Feten zuzuordnen, wurde von dieser an 3 verschiedenen Stellen Proben für die weiteren Untersuchungen entnommen. Pro Muttersau wurden in der Regel 3 Feten

untersucht, wobei, sofern vorhanden, Mumien und ein nicht-autolytischer Fetus in die Untersuchungen einbezogen wurden. Für serologische Tests wurde den Muttertieren mit Fruchtbarkeitsproblemen aus der Vena jugularis Blut entnommen.

Probenaufbereitung

Die Ferkel wurden gewogen und die Scheitel-Steiss-Länge (SSL) gemessen. Das Gewebe wurde im Rahmen der Routinediagnostik sowohl pathologisch-anatomisch als auch auf Bakterien und Viren untersucht. Für die Histologie wurden Gewebeproben von Herz, Lunge, Leber, Niere, Milz, Mesenteriallymphknoten, Thymus, Gehirn und Plazenta entnommen. Sie wurden in 4%iger Formaldehydlösung fixiert, in Paraffin eingebettet und Hämatoxilin-Eosin (HE) gefärbt. *in 10%-igem Formalin fixiert, dann in Paraffin eingebettet und zu 2-3 µm dicken Hämatoxilin-Eosin (HE) gefärbten Histologieschnitten weiter verarbeitet.* Folgende Spezialfärbungen wurden durchgeführt: eine modifizierte Gramfärbung (Brown Brenn), Versilberung nach Warthing-Starry (W+S), Ziehl-Neelsen-Färbung zur Darstellung säurefester Bakterien, von Kossa-Färbung zur Darstellung von Kalksalzen und Van Gieson-Färbung zur Darstellung von Kollagenfasern. Plazentaausstriche wurden mittels Köster- und Giménez-Färbung auf Infektionen mit Brucellen und Chlamydien untersucht. Von den Plazenten und den inneren Organen wurde der mesophile, aerobe Keimgehalt auf Columbia-Blutagar mit 5% defibriniertem Schafblut (Oxoid, Pratteln, Schweiz) bestimmt. Die Differenzierung der Bakterienisolate erfolgte mittels kulturell-biochemischen und molekularbiologischen Methoden (Quinn et al., 1994). Lebernekrosen mit Verdacht auf eine Leptospireninfektion wurden mittels PCR (IVD GmbH Hannover) und bei Verdacht auf eine Mykobakterieninfektion ebenfalls mittels PCR (Kim et al. 2001) weiter untersucht. Der PPV-Nachweis wurde aus einem Gewebehomogenat, bestehend aus Herz, Lunge, Leber, Niere mittels Immunelektronenmikroskopie (IEM) und der PPV-Antikörper-Nachweis mittels indirekter Immunfluoreszenz (IIF) durchgeführt (Zanoni et al., 1984).

Der PCV2-Nachweis geschah mittels Immunhistochemie (IHC) an Paraffinschnitten mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers F217 (McNeilly et al., 2001; Staebler et al., 2004). Für den Enteroviren-Nachweis wurde je ein Ferkel von 44 verschiedenen Muttersauen (27 Aborte und 17 Würfe mit vermehrt mumifizierten Ferkeln) ungeklärter Ursache von Fruchtbarkeitsstörungen ausgewählt. Das für die PPV-

Diagnostik verwendete tiefgefrorene Gewebehomogenat wurde mittels PCR (Zell et al., 2000) von der Firma bioScreen (bioScreen European Veterinary Disease Management Center GmbH, Münster, Deutschland) auf porcine Teschoviren und porcine Enteroviren Typen 8, 9 und 10 untersucht. PCV2-Templates im EDTA-Blut der Muttersauen wurden mittels einer SYBR Green Technik (Publikation in Vorbereitung) quantitativ gemessen.

Serologische Untersuchungen

Die Muttersauenserum wurden serologisch auf Antikörper folgender Erreger untersucht: PCV2 mittels SERELISA[®] (SYNBIOTICS EUROPE SAS 2, Lyon, Frankreich); Aujeszky'sches Virus mittels Herdcheck[®] Anti-PRVgB (IDEXX Laboratories, Inc., IDEXX Switzerland, Liebefeld-Bern); PRRSV mittels HerdCheck[®] PRRS ELISA 2XR (IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, ME, USA); Leptospiren mittels Micro-Agglutinationstest (MAT) (Serovare *L. grippotyphosa*, *L. australis*, *L. pomona*, *L. tarassovi*, *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae* und *L. bataviae*) und Brucellen mittels dem Rose-Bengal-Test (RBT).

Ergebnisse

Insgesamt wurden 286 Ferkel von 113 Muttersauen/Fällen (eine Muttersau repräsentiert einen Fall) aus 59 Betrieben untersucht. Das Untersuchungsmaterial stammte aus 12 verschiedenen Kantonen, wobei Gebiete mit einer hohen Schweinedichte (Luzern, Thurgau, St. Gallen und die Region Emmental im Kanton Bern) mit 44 Betrieben (74.4%) den Hauptteil der untersuchten Fälle darstellten. Bei den 113 Fällen handelte es sich um 42 Aborte sowie um 71 zeitgerechte Geburten mit mumifizierten, autolytischen, totgeborenen oder lebensschwachen Ferkeln (Tab 1).

Alle 113 Sauen waren serologisch negativ für PRRSV, PRV, *Brucella suis* und Leptospiren. Histologisch wurde an keinem der Ferkel eine Enzephalitis beobachtet. Bei den PCV2 IHC negativen Ferkeln konnte in keinem Fall eine Myokarditis diagnostiziert werden. Es lagen somit auch keine Hinweise einer Beteiligung von EMCV vor. Alle Plazenten waren mikroskopisch mittels Spezialfärbung negativ für Chlamydien und Brucellen.

In 33% konnte entweder eine infektiöse Ursache (Erregernachweis in 21% der Fälle) oder histologisch entzündliche Veränderungen ohne Erregernachweis (in 12% der Fälle) gefunden werden. In über 50% der Fälle fanden sich keine Hinweise auf ein infektiöses Geschehen und in 4% der untersuchten Fälle konnten Missbildungen und Dystokien gefunden werden (Tab 2).

Viral bedingte Fruchtbarkeitsstörungen

Virale Abortursachen, ohne Einbezug von PEV beziehungsweise PTV, konnten mit 7% der Fälle selten festgestellt werden. Die 5 mittels IHC diagnostizierten PCV2 Fälle stammten von 4 Jungsauen (3x 1. Wurf, 1x 2. Wurf) und einer Altsau (4. Wurf) aus 4 verschiedenen Betrieben. In 3 Betrieben waren ausschliesslich Jungsauen (1. und 2. Wurf) und in einem Betrieb alle Altersklassen betroffen. Die Muttersauen ferkelten alle zwischen dem 114. und 118. Trächtigkeitstag ab. In den betroffenen Würfen war insbesondere eine erhöhte Anzahl an mumifizierten Ferkeln zu verzeichnen (Tab 3). Die Muttertiere zeigten zum Zeitpunkt der Geburt keine klinischen Symptome. Keiner der Betriebe setzte eine PCV2-Mutterschutzimpfung ein. Alle 5 Sauen hatten hohe Antikörpertiter gegen PCV2 jedoch konnten nur in 3 von 5 Muttersauen geringe Mengen von PCV2-DNA mittels PCR nachgewiesen werden (Tab 4). Anhand der Scheitel-Steiss-Längen (SSL) wurden die Todeszeitpunkte der Feten geschätzt. Kein Fetus starb vor dem 70. Trächtigkeitstag ab (Tab 4). Die mumifizierten oder stark autolytischen fetalen Organe konnten histologisch kaum mehr hinsichtlich entzündlicher Veränderungen beurteilt werden, da das Gewebe hochgradig ausgeblasst war und die Zellkerne oft nicht mehr erkennbar waren. So konnten nur in 2 der 14 untersuchten Herzen eine Entzündung und in 3 Herzen eine multifokale Fibrosierung zweifelsfrei diagnostiziert werden. Allerdings wiesen 12 Herzen gut sichtbare multifokale dystrophische Verkalkungen auf (Tab 5). Die PCV2-Antigenmengen in den verschiedenen fetalen Organen der 14 IHC-positiven Ferkel sind in Abb. 1 zusammengestellt. Im Myokard waren immer mittel bis hochgradige PCV2-Antigen Mengen vorhanden. Auch in anderen Organen, insbesondere Mesenteriallymphknoten, Thymus, Leber und Milz konnte PCV2-Antigen in sehr hohen Mengen nachgewiesen werden. Überdies traten mittel- und geringgradige Antigenmengen in diversen Feten in nahezu allen untersuchten Organen auf. Antigenbeladene Zellen waren oft intravaskulär auch in Plazenten und Gehirnen zu finden, aber auch als Einzelzellen oder Zellgruppen verteilt im

239 Interstitium der Gewebe. Bei den intravaskulären PCV2-positiven Zellen handelte es
240 sich wahrscheinlich um Monozyten/Makrophagen und bei den interstitiellen Zellen
241 morphologisch um Histiozyten und dendritische Zellen. Myokardzellen und
242 Hepatozyten waren meist stark infiziert und diffus mit PCV2-positiven Zellen
243 überflutet. In den 3 untersuchten Thymi war das Mark stärker betroffen als die Rinde.

245 PPV konnte in 4 Mumien aus 3 Würfen (1. 3. und 7. Wurf) von 2 Beständen
246 nachgewiesen werden. Im ersten Betrieb wurden die Muttersauen nach gängigem
247 Impfschema gegen PPV vakziniert. Der betroffene Wurf bestand aus 2 Mumien, 2
248 Totgeburten und 10 lebensfähigen Ferkeln. PPV konnte nur in der untersuchten
249 Mumie (SSL 11cm) nachgewiesen werden, nicht jedoch in den zwei untersuchten
250 Totgeburten, die serologisch negativ für PPV waren. Im zweiten Betrieb wurde keine
251 PPV-Impfung eingesetzt. Die beiden betroffenen Würfe bestanden hauptsächlich aus
252 verschieden grossen Mumien, aber auch aus lebensschwachen und normalen,
253 lebensfähigen Ferkeln.

254 RNA von PEV beziehungsweise PTV konnte in 5 von 44 untersuchten Fällen mit bis
255 anhin ungeklärter Ätiologie isoliert werden. Aus Würfen mit Mumien konnte 1x PTV
256 und 2x PEV Typ 9 oder 10 nachgewiesen werden. PEV Typ 9 oder 10 wurde zudem
257 auch in zwei Spätaborten ohne Mumien diagnostiziert. Die Muttersauen waren in
258 allen Fällen ohne klinische Symptome.

260 Bakteriell bedingte Fruchtbarkeitsstörungen

261 In 14% der Fälle konnten bakterielle Erreger zusammen mit entzündlichen
262 Veränderungen in Plazenta und oder in den fetalen Organen nachgewiesen werden.

263 Die Häufigkeiten der jeweils nachgewiesenen Erreger ist aus Tab 2 ersichtlich.

264 Mykobakterien wurden aus 2 Totgeburten isoliert, die aus einem Wurf am 116.
265 Trächtigkeitstag mit insgesamt 4 Totgeburten stammten. Histologisch konnte in
266 beiden Ferkeln eine hochgradige multifokal-konfluierende, nekrotisierende Plazentitis
267 und eine mittelgradige, multifokale, kleinherdförmige, granulomatöse Hepatitis jeweils
268 mit Nachweis von massenhaft säurefesten Stäbchen nachgewiesen werden. Mittels
269 PCR und nachfolgendem Restriktionsverdau konnten in den Proben Mykobakterien,
270 die nicht zum *M. tuberculosis* Komplex gehören, nachgewiesen werden. Der
271 Leptospirenverdachtsfall stammt von einem primiparen Muttertier, das am 98.
272 Trächtigkeitstag ohne weitere klinische Symptomatik abortierte. In 2 von 3

untersuchten Ferkeln war die Leber makroskopisch mit 0.5-1 cm grossen, weiss-grauen Flecken übersät. Histologisch handelte es sich dabei um eine mittelgradige multifokale eitrig-nekrotisierende Hepatitis. Leichtgradige entzündliche Veränderungen fanden sich auch in Lunge und Plazenta. Mittels Versilberung (W+S) waren histologisch Leptospiren-ähnliche Erreger am Rand der Lebernekrosen auffindbar. Die durchgeführte PCR zum Nachweis von Leptospiren fiel jedoch negativ aus. Der Leptospiren-Antikörpertiter des Muttertieres lag für *L. grippotyphosa* bei 1:100.

Diskussion

Prävalenzangaben über PCV2-bedingte Fruchtbarkeitsstörungen variieren weltweit beachtlich, doch schwanken auch Sensitivität und Spezifität der angewandten Methoden stark. In einer amerikanischen Arbeit konnte PCV2 mittels PCR in keiner (Bogdan et al., 2001), in Spanien mittels PCR und in situ Hybridisierung in 1% (Segales et al., 2002; Maldonado et al., 2005) und in Brasilien mit PCR und IHC in 5.7% (Pescador et al., 2007) der untersuchten Proben gefunden werden. Im Gegensatz dazu ergaben PCR-Untersuchungen aus Österreich eine PCV2-Prävalenz von 20.5% (Dastig et al., 2003) und aus Deutschland 27.1% (Ritzmann et al., 2005b). In der Mitte liegt eine mittels PCR ermittelte Häufigkeit von 13.1% aus Korea (Kim et al., 2004). In unserer Arbeit konnte mittels IHC eine Prävalenz von 4% ermittelt werden. Die Mehrheit der IHC-positiven Ferkel waren Mumien, von denen die meisten dystrophische Myokardverkalkungen aufwiesen. Um die Diagnose PCV2-assoziierte Fruchtbarkeitsstörungen stellen zu können, müssen gemäss Segales et al., (2006) drei Kriterien erfüllt sein: (I) klinische Symptomatik mit vermehrt Aborten und/oder Mumien und Totgeburten, (II) Myokardveränderungen (Fibrosen/Degeneration und/oder Entzündung) und (III) PCV2-Nachweis in den Läsionen. Die in dieser Arbeit erfassten Fälle erfüllen alle 3 Kriterien, wobei eine Myokarditis infolge des schlechten Zustandes der mumifizierten Gewebe oft kaum ansprechbar war. Hingegen konnten Myokarddegeneration in Form dystrophischer Verkalkungen bei PCV2-bedingtem Fruchttod häufig beobachtet werden und sind auch im mumifizierten oder autolytischen Gewebe noch gut erkennbar. Während andere Autoren mittels IHC, PCR oder Virusisolation PCV2 auch in abortierten Feten finden konnten (Josephson und Charbonneau 2001; Meehan et al., 2001), wurde

307 PCV2 Antigen in unserem Untersuchungsmaterial mittels IHC nur in Mumien und
308 einer Totgeburt nachgewiesen. Die Klinik entsprach den PPV-bedingten
309 Fruchtbarkeitsstörungen mit Vorhandensein von Mumien, aber auch
310 lebensschwachen und sich normal entwickelnden Ferkeln. In unseren
311 Untersuchungen waren ebenfalls, wie in der Literatur beschrieben, vor allem
312 Erstlingssauen und Jungsauen von PCV2-bedingten Fruchtbarkeitsstörungen
313 betroffen. Gefährdet sind Betriebe mit einem hohen Jungsauenanteil wie zum
314 Beispiel bei neu aufgebauten Sauenherden oder ein Wechsel des
315 Jungsauenlieferanten (West et al., 1999; Ladekjaer-Mikkelsen et al., 2001; O'Connor
316 et al., 2001; Josephson und Charbonneau, 2001; Sanford, 2002; Kim et al.,
317 2004; Brunborg et al., 2007; Pittman, 2008). Die Tatsache, dass vor allem Jungsauen
318 betroffen sind, kann mit einer mangelnden Immunität der Jungsauen wegen
319 ungenügender Akklimatisation an den neuen Standort erklärt werden. Im
320 vorliegenden Untersuchungsmaterial konnten bei einer Stichprobe mittels PCR im
321 Thymus auch bei IHC negativen Ferkeln PCV2 nachgewiesen werden. Nicht jede
322 intrauterine PCV2 Infektion führt demnach zwingend zu Fruchtbarkeitsstörungen.
323 Auch andere Autoren fanden in präkolostralen Blutproben bei rund 20% der
324 normalen lebensfähigen Ferkel mittels PCR geringe Mengen an PCV2 (Baker et al.,
325 2011). In einer weiteren Untersuchung konnte in präkolostralen Blutproben von
326 gesunden Neonaten in 21.4% IgG gegen PCV2 und in 39.9% PCV2-DNA
327 nachweisen werden (Shen et al., 2010). Eine latente vertikale Infektion ist
328 möglicherweise viel häufiger als bis anhin vermutet und könnte mit eine Erklärung für
329 die weite Verbreitung von PCV2 sein. Die Häufigkeit und Bedeutung latenter
330 intrauteriner Infektionen mit PCV2 muss weiter abgeklärt werden.

331 PPV wurde mit 3% aller Fälle viel seltener nachgewiesen als dies noch in früheren
332 Untersuchungen der Fall war. Der markante Rückgang im Vergleich zu früheren
333 Angaben von Zanoni et al. 1984 (48%) und Broll et al., 1993 (29%) kann mit der
334 nahezu flächendeckend eingesetzten PPV-Impfung erklärt werden.

335 Bis anhin wurde unseres Wissens in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsstörungen noch
336 nie auf PEV beziehungsweise PTV untersucht. Die gefundenen 5 Fälle aus einer
337 Stichprobe von 44 ätiologisch nicht geklärten Fällen mit Fruchtbarkeitsstörungen mit
338 vermehrten Mumien ergeben eine Prävalenz von 11.3%. Allerdings ist nicht klar, ob
339 die nachgewiesenen Serotypen auch an den Fruchtbarkeitsstörungen ursächlich
340 beteiligt sind. In einer amerikanischen Untersuchung (Kirkbride und McAdaragh 1978)

war PEV mit 11% die am häufigsten gefundene infektiöse Ursache für Fruchtbarkeitsstörungen beim Schwein. In unserem Untersuchungsmaterial konnte in 4 der 5 Fälle PEV 9 und 10 nachgewiesen werden. Diese Serotypen wurden bis jetzt nur in Italien, Grossbritannien und Japan beschrieben (Zoletto, 1965; Knowles et al., 1979; Caracappa et al., 1985; Honda et al., 1990). Sie werden aber in der Literatur nicht mit Fruchtbarkeitsstörungen, sondern mit Hautläsionen in Zusammenhang gebracht (Knowles et al., 1979). Eine systematische Untersuchung von Fruchtbarkeitsproblemen auf PEV/PTV drängt sich auf.

Bei den bakteriellen Infektionen hat sich die Situation im Vergleich zu früheren Untersuchungen nicht verändert. Fakultativ pathogene Keime, wie *E. coli* und Streptokokken, stehen im Vordergrund. Brucellen konnten nicht nachgewiesen werden und Leptospiren spielen im Gegensatz zu ausländischen Untersuchungen (Kirkbride und McAdaragh 1978; Dastig et al., 2003) in der Schweiz bei Fruchtbarkeitsproblemen kaum eine Rolle. In dieser Untersuchung standen häufig auch Plazenten zu Verfügung. Trotzdem konnten im mikroskopischen Ausstrich keine Chlamydien nachgewiesen werden. Weitergehende Untersuchungen des Materials auf Chlamydien oder Toxoplasmen mit IHC, PCR oder ELISA bleiben nachfolgenden Arbeiten vorbehalten.

375 Tabelle 1: Anzahl untersuchter Ferkel (n=113) unterteilt nach Aborten, zeitgerechten
 376 Geburten und Zustand der Ferkel.

			Total
	42 Aborte	71 zeitgerechte Geburten	113 Fälle
tote, normal entwickelte Ferkel	91	73	164
Mumien	4	55	59
autolytische Ferkel	6	11	17
lebensschwache Ferkel	1	32	33
Frühaborte (<35.Trächtigkeitstag)	13		13
Total untersuchte Ferkel	115	171	286

Tabelle 2: Ätiologische Diagnosen.

Ätiologie	Erreger	Anzahl Fälle	%
Viral	PCV2	5	4%
	PPV	3	3%
	Enteroviren/Teschoviren ^a	5 ^a	11% ^a
Bakteriell ^b		16	14%
Unbekannt, jedoch Hinweise für Infektion ^c		14	12%
Missbildungen, Dystokie		4	4%
Keine Hinweise auf infektiöses Geschehen		71	> 50%

^a Untersuchung einer Stichprobe auf Enteroviren/Teschoviren aus 44 Würfeln

^b Erregerisolation inkl. histologische Entzündungsanzeichen wie Plazentitis und oder Pneumonie. Nachgewiesene Erreger: *E. coli* (6), Streptokokken (3), *A. pyogenes*, (2), Klebsiellen (2), Enterokokken (1), Mykobakterien (*Mycobacterium* other than *M. tuberculosis*-complex (MOTT) (1), Leptospiren-Verdacht (Versilberung) (1)

^c Histologisch Entzündungsanzeichen wie Plazentitis und oder Pneumonie ohne Erregerisolation.

423 Tabelle 3: Wurfzusammensetzung der 5 PCV2-positiven Fälle.

424

Sau	Wurf- nummer	Gesamtzahl Ferkel	Mumien	Tot- geburten	Lebens- schwache Ferkel	Normale Ferkel
1	1	15	13	0	2	0
2	1	10	6	0	0	4
3	1	7	3	4	0	0
4	2	13	10	1	1	1
5	4	14	3	1	8	2

425

426

427

428

429

430

431

432

433

434

435

436

437

438

439

440

441

442

443

444

445

446

447

Tabelle 4: PCV2-Serologie und quantitative PCR bei den Muttersauen im Vergleich zur Scheitel-Steiss-Länge (SSL) zum Todeszeitpunkt der PCV2-positiven Ferkel.

Fall-Nr.	Anzahl Viren/ml EDTA-Blut	PCV2-IgG Titer Muttersau	SSL der PCV2 positiven Feten (cm)	Todeszeitpunkt der Feten in Trächtigkeitstagen
1	0	>20000	(M/M) 20/21	83/86
2	0	>20000	(M/M/A) 17/21/29	74/86/111
3	1.5×10^5	7102	(M/A/A) 19/30/30	80/114/114
4	5×10^5	6232	(M/M/T) 24/29/29	95/111/111
5	10^5	4308	(M/M/T) 29/29/30	111/111/114

Der Todeszeitpunkt wurde mit der Formel nach Almond et al. (2006) berechnet:

$$\text{Alter} = 21.07 + 3.11 \times \text{SSL}$$

473 Tabelle 5: Herzveränderungen der 14 PCV2 positiven Fälle.

474

	Mumien (n=9)			Nicht-Mumien (n=5)		
	ja	nein	n.b. ^a	ja	nein	n.b. ^a
Myokardverkalkung	8	1		4	1	
Myokardfibrose	2	7		1	4	
Myokarditis	1		8	1	2	2

475

476 ^aaufgrund Mumifikation oder starker Autolyse histologisch nicht beurteilbar (n.b.).

477

478

479

480

481

482

483

484

485

486

487

488

489

490

491

492

493

494

495

496

497

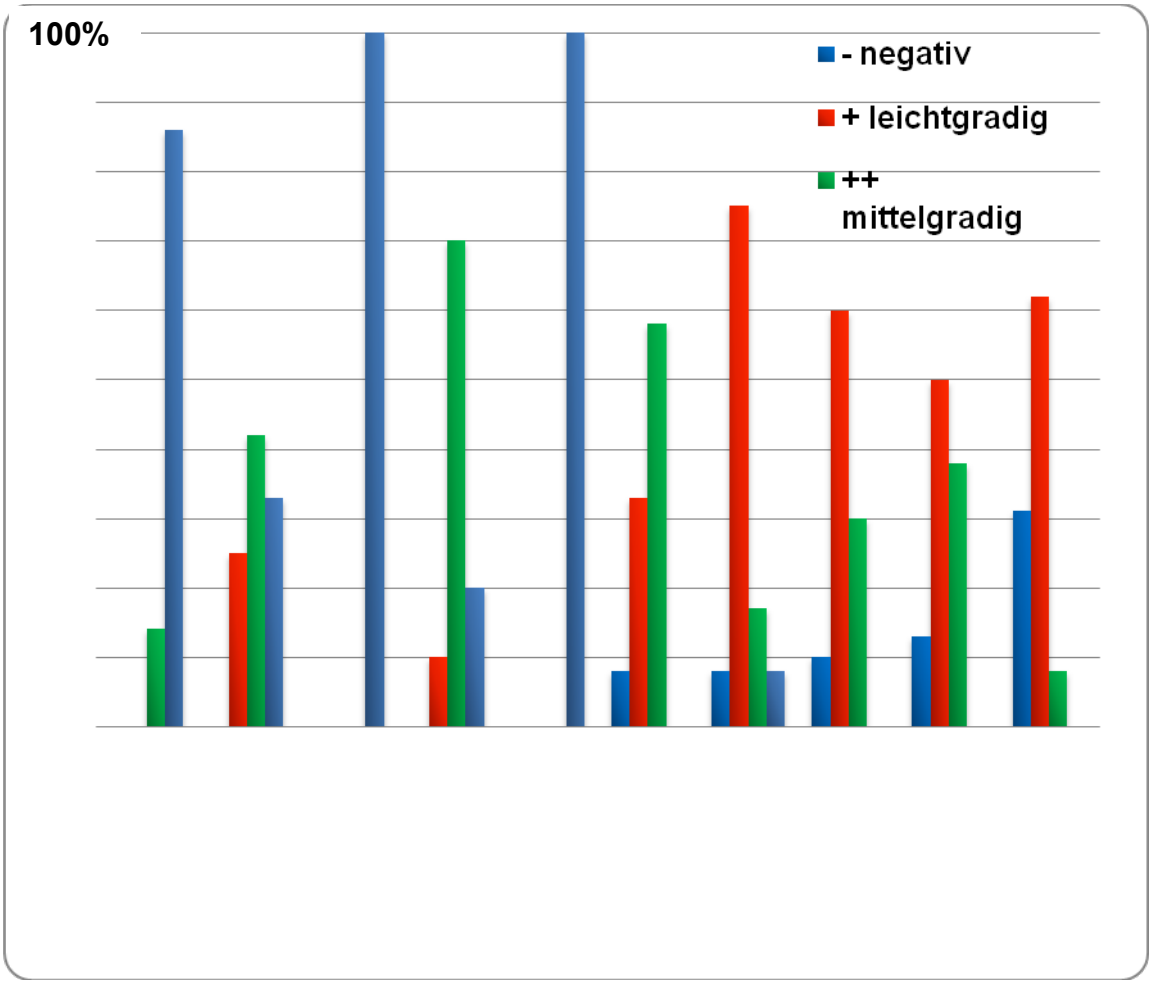
498

499

500

501

502 Abbildung 1:
503



504
505
506
507
508
509
510
511
512
513
514
515
516
517
518
519
520
521
522
523
524

525 Abbildung 1: Prozentsatz (%) der fetalen Organe mit unterschiedlicher Antigenmenge
526 von 14 IHC-positiven Ferkeln.
527
528